

вазодилатирующем эффекте говорит и снижение скорости артериального кровотока при РГ и использовании НГ.

Результаты влияния курсового назначения нитрамила на содержание цГМФ в тромбоцитах периферической крови представлены в таблице 2.

Представленные данные демонстрируют достоверное возрастание внутриклеточного содержания цГМФ после курса лечения нитраamilом, что совпадает с положительными сдвигами вазорегуляторной функции эндотелия.

Полученные данные позволяют заключить, что курсовое назначение нитрамила приводит к улучшению вазорегуляторной функции эндотелия. Эффект вазодилатации, возможно, связан с тем, что в процессе биотрансформации препарата образуются соединения, увеличивающие продукцию цГМФ. Важно отметить, что эндотелиальные реакции, обусловленные эндотелий-релаксирующим фактором (NO), участвуют в функционировании системы ауторегуляции (4). Таким образом, нитраamil может изучаться в комплексе тех фармакологических средств, которые влияют на органы-мишени и на ауторегуляцию жизненно важных зон кровообращения.

#### *Литература*

1. Kaliadka M., Nedarezav V., Sidorenko G. Combined antiplatelet and anticoagulant effect of nitramil-derivative of oxidized polysaccharides. //Cardiovascular Drugs and Therapy. –1999. -Vol.13. - №1. -60p.
2. Lüscher T.F. The Endothelium in Cardiovascular Disease. –1995. – Bern: Springer, -197 p.
3. Затеищикова А.А., Затеищиков Д.А. Эндотелиальная регуляция сосудистого тонуса: методы исследования и клиническое значение. //Кардиология. –1998. - №9. -С.68-80.
4. Сидоренко Г.И. Концепция органов-мишеней с позиции ауторегуляции. //Кардиология. –2001. -№5. -С.82-87.

### **БАЗАЛЬНЫЙ УРОВЕНЬ NO И КОЛИЧЕСТВО ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ЭНДОТЕЛИОЦИТОВ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ**

**Косинец А.Н., Сушков С.А., Солодков А.П., Хотетовская Ж.В.,  
Таллер В.А., Небылицин Ю.С.**

*Государственный медицинский университет, г. Витебск*

Хроническая венозная недостаточность (ХВН) сопровождается изменением гемодинамики в поверхностных и глубоких венах. Развивающийся ретроградный кровоток способствует появлению венозного

стаза. В таких условиях венозная стенка находится в состоянии ишемии, а каскад возникающих при этом реакций, может быть причиной нарушения трофики тканей [3].

Изменение функциональной активности эндотелиоцитов кровеносных сосудов является одной из причин, определяющих основные проявления хронической венозной недостаточности. Появление отеков, трофических изменений и изъязвление кожи могут быть следствием активации свободно радикального окисления, в том числе, и опосредованного монооксидом азота (NO). Одновременное увеличение продукции NO и супероксиданиона сопровождается возрастанием количества пероксинитрита – вещества, обладающего повреждающим эффектом. Увеличение продукции NO эндотелиоцитами кровеносных сосудов, а также числа циркулирующих эндотелиальных клеток было обнаружено при повреждении эндотелия и, следовательно, представляет доказательство повреждения сосудистой стенки.

Целью настоящей работы было сравнение содержания начальных и конечных продуктов перекисного окисления липидов плазмы крови, продуктов деградации NO и количества циркулирующих эндотелиоцитов в крови, взятой из бедренной и локтевой вен больных хронической венозной недостаточностью нижних конечностей с уровнем этих показателей у контрольных субъектов.

#### *Материалы и методы исследования*

В венозной крови 39 пациентов с ХВН и 21 донора определяли концентрацию начальных (диеновые конъюгаты) и конечных (малоновый альдегид) продуктов перекисного окисления липидов, стабильных продуктов деградации NO ( $\text{NO}_2/\text{NO}_3$ ), а также число циркулирующих в крови эндотелиоцитов (ЦЭК).

Концентрацию стабильных продуктов деградации монооксида азота в плазме крови определяли по методу Грисса. Конверсию нитратов в нитриты осуществляли цинковой пылью, обработанной аммиачным комплексом сульфата меди, которую добавляли в пробирку с исследуемой плазмой.

Активность перекисного окисления липидов в плазме крови определяли методом В.Б.Гавриловой, М.И.Мишкорудной (1983) [1] после экстракции липидов смесью гептана в изопропиловом спирте [2]. Содержание диеновых конъюгатов в пробе рассчитывали, учитывая величину молярного коэффициента экстинкции, при 233 нм для сопряженных кислот равного  $2.2 \cdot 10^5 \text{ c}^{-1} \text{ m}^{-1}$ . ТБК-активные продукты (малоновый диальдегид) определяли по методу И.Д.Стайной, Т.Г.Гаришвили (1977) [2] при помощи 0.8% тиобарбитуровой кислоты. Количество малонового диальдегида рассчитывали, учитывая молярный коэффициент экстинкции триметинового комплекса  $1.56 \cdot 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ m}^{-1}$ .

Концентрацию общих липидов плазмы крови определяли набором фирмы "Лахема" (Чехия), общий белок - биуретовым методом. Количество циркулирующих в крови десквамированных эндотелиоцитов и их каркасов находили по методу Hladovic et al. (1978) [4].

Результаты обработаны методом вариационной статистики по методу Стьюдента.

#### *Результаты и их обсуждение*

В венозной крови доноров количество ЦЭК оказалось равной  $91 \pm 4$  клетки/100 мкл. Все клетки окрашивались метиленовой синькой, то есть 100% клеток обладали жизнеспособностью. Содержание нитратов/нитритов составило  $23,2 \pm 1,2$  мкм/л, диеновых конъюгатов –  $82,3 \pm 6,3$  нМ/г плазмы крови и малонового диальдегида –  $66,8 \pm 2,9$  нМ/г белка плазмы крови.

Таблица 1

**Содержание продуктов деградации монооксида азота, циркулирующих эндотелиоцитов и продуктов активации перекисного окисления липидов в венозной крови, взятой из локтевой вены**

Группа	Нитраты/ нитриты. мкм/л	ЦЭК, кл/100м кл	Жизне- способ- ность ЦЭК, %	ДК, нмоль/г липидов плазмы крови	МДА. нмоль/г бела плазмы крови
Доноры (n=41)	$23,2 \pm 1,2$	$91 \pm 4$	100	$82,3 \pm 6,3$	$66,8 \pm 2,9$
ХВН 1 степени (n=27)	$29,8 \pm 0,8^*$	$130 \pm 17^*$	90	$95,0 \pm 5,9$	$88,0 \pm 12,1$
ХВН 2 степени (n=12)	$32,1 \pm 1,5^*$	$145 \pm 18^*$	90	$95,8 \pm 4,2$	$99,0 \pm 6,2^*$

Примечание: \* - здесь и в табл.2 -  $p < 0,005$  по сравнению с группой "доноры".

У больных ХВН 1 степени наблюдались варикозное расширение поверхностных вен, отечность и судорожно-болевой синдром. При хронической венозной недостаточности 2 степени помимо этого имелись трофические нарушения в нижней трети голени.

**ХВН 1 степени.** В крови, полученной из локтевой вены, концентрация продуктов деградации NO увеличивалась на 28 %, количество ЦЭК на 43 % и на 10 % уменьшилось число жизнеспособных клеток. Содержание ДК и МДА достоверно не изменялось (табл. 1).

В крови, взятой из бедренной вены концентрация  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  по сравнению со здоровыми субъектами возросла на 47 % и оказалась на 17 % более высокой, чем в крови, полученной из локтевой вены данных больных (табл.2). Возрастало и число ЦЭК на 76 % по сравнению с содержанием их в крови, взятой из локтевой вены больных с ХВН. Причем число жизнеспособных клеток уменьшилось до 87 %. Концентрация начальных и конечных продуктов перекисного окисления липидов в крови из бедренной вены не отличались от их концентрации в крови полученной из локтевой вены больных или доноров.

Таким образом, при ХВН нижних конечностей 1 степени отмечается (1) активация NO-синтазной системы и возрастание в венозной крови, полученной из локтевой и бедренной вен, стабильных продуктов деградации NO, (2) увеличение числа десквамированных эндотелиоцитов и их каркасов в венозной крови взятой из локтевой вены и бедренной вены, (3) в крови, полученной из соответствующего региона наблюдается, более выраженное возрастание указанных показателей, особенно числа ЦЭК. Следовательно, наблюдается активация синтеза монооксида азота, а также отслоение и отрыв клеток эндотелия от базальной мембраны. Это позволяет предположить, что выраженные повреждения интимального слоя кровеносных сосудов при этом состоянии в значительной степени определены изменениями, происходящими в венозных сосудах нижней конечности.

Таблица 2

**Содержание продуктов деградации монооксида азота, циркулирующих эндотелиоцитов и продуктов активации перекисного окисления липидов в венозной крови, взятой из бедренной вены**

Группа	Нитраты/ нитриты. мкМ/л	ЦЭК, кл/100м кл	Жизнеспособность ЦЭК, %	ДК, нМ/г липидов плазмы крови	МДА. нМ/г белка плазмы крови
Доноры (n=41)	23,2±1,2	91±4	100	82,3±6,3	66,8±2,9
ХВН 1 степени (n=27)	34,1±1,4	229±19	87	95,8±5,8	93,6±12,3
ХВН 2 степени (n=12)	33,2±2,1	147±25	79	101±8,5*	124±15,8*

**ХВН 2 степени.** При ХВН нижних конечностей 2 степени в крови, полученной из локтевой или бедренной вен, концентрация  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  оказалась увеличена, по сравнению, с донорами на 38-43 %. Подобная

динамика была характерна и для числа ЦЭК, найденных в крови, взятой из локтевой или бедренной вен. Их число увеличивалось на 59-61 %, а жизнеспособность в большей степени уменьшилась в региональной венозной крови (до 79 %, табл. 2).

Содержание в крови из локтевой вены ДК и МДА была выше на 15 и 47 % соответственно, чем в крови доноров и больных с ХВН 1 степени. В крови из бедренной вены концентрация ДК и МДА оказалась увеличенной в еще большей степени (на 23 и 85 % соответственно). Следовательно, при ХВН 2 степени, по сравнению с ХВН 1 степени концентрация  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$  в крови как из локтевой, так и бедренной вен возрастает, а число ЦЭК уменьшается на фоне снижения их жизнеспособности.

Таким образом, при ХВН 2 степени активируется свободно-радикальное окисление, наблюдается значительное возрастание концентрации  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$ , увеличение числа ЦЭК и существенно снижается их жизнеспособность. Причем эти изменения происходят независимо от региона кровообращения и протекают на фоне активации свободно-радикального окисления.

Подводя итог, можно отметить, что (1) определение региональной концентрации  $\text{NO}_2/\text{NO}_3$ , числа ЦЭК и содержание продуктов активации перекисного окисления липидов может служить дополнительным диагностическим критерием степени тяжести венозной недостаточности и, в первую очередь, отражать степень активности воспаления, а также повреждение эндотелиального слоя венозной стенки. (2) Эти результаты подтверждают важную роль эндотелия в развитии ХВН и предлагают использование препаратов, восстанавливающих функциональную активность эндотелиоцитов.

#### *Литература*

1. Гаврилова В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекиси липидов в плазме крови // Лаб. дело. - 1983. - №3. - С.33-36.
2. Стальной М.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового альдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / Под. ред. В.Н.Ореховича. - М.: Медицина, 1977. - С.66-68.
3. Howlader M.H. Increased basal total nitric oxide in the plasma of patients with severe chronic venous disease // J.Vasc.Res.- 2001.- Vol. 38, №4.- P. 400.
4. Hladovec J. Circulating endothelial cells as a sign of vessels wall lesions // Phisiologia bohemoslovaca.-1978.- Vol. 27.- P.140-144.